

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication : 2 724 563
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)
(21) N° d' enregistrement national : 95 07908
(51) Int Cl⁶ : A 61 L 27/00, 31/00, A 61 F 2/02

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 30.06.95.

(30) Priorité : 15.09.94 FR 9411015.

(71) Demandeur(s) : COLETICA SOCIETE ANONYME — FR.

(43) Date de la mise à disposition du public de la demande : 22.03.96 Bulletin 96/12.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : Ce dernier n'a pas été établi à la date de publication de la demande.

(60) Références à d'autres documents nationaux apparentés :

(72) Inventeur(s) : ORLY ISABELLE.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire : CABINET BEAU DE LOMENIE.

(54) UTILISATION DE MEMBRANES COLLAGENIQUES COMME PROTHESES DE REGENERATION PERITONEALE.

(57) L'invention concerne l'utilisation de collagène pour la fabrication d'une membrane.

L'invention vise l'utilisation de collagène éventuellement réticulé pour la fabrication d'une membrane collagénique, transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, et résorbable, de préférence à résorption relativement rapide, destinée à la chirurgie, de préférence à la chirurgie sous coelioscopie, en particulier la chirurgie pariétale.

Grâce à l'invention, le chirurgien peut introduire la membrane par un trocart de 1 cm de diamètre, tout en voyant par transparence les vaisseaux sous la membrane, en permettant un agrafage ou une suture tout à fait sûrs.

FR 2 724 563 - A1



5 **L'invention concerne essentiellement l'utilisation de collagène pour la fabrication d'une membrane transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, et résorbable.**

10 Une telle membrane peut être avantageusement utilisée en chirurgie pariétale, de préférence en chirurgie sous coelioscopie et en particulier pour remplacer temporairement le péritoine avant sa régénération dans les zones de dépéritonisation opératoire, et diminuer ainsi le risque d'adhérences pathogènes.

15 Dans le cadre de la présente description et des revendications, les termes "chirurgie pariétale" signifient chirurgie de la paroi abdominale. D'autre part, dans le cadre de la description et des revendications, on entend par "membrane transparente" une membrane qui est transparente au moins au moment de l'utilisation dans les conditions d'utilisation. L'invention inclut en effet des membranes qui peuvent ne pas être transparentes à l'état sec mais qui sont utilisées à l'état hydraté et au cours de cette hydratation elles acquièrent une transparence qui permet de voir au travers suffisamment pour être en mesure de l'agrafer ou de la suturer en évitant les zones défavorables telles que vaisseaux et nerfs.

20 L'une des complications les plus fréquentes, en chirurgie viscérale en particulier, est la formation d'adhérences consécutives à des résections péritonéales.

25 En effet, les zones de dépéritonisation opératoire, qu'elles concernent le péritoine pariétal ou le péritoine viscéral, et qui sont parfois des zones de taille importante, sont le siège d'une activité inflammatoire et/ou cicatricielle qui conduit à un accrolement anormal entre deux surfaces ou segments d'organes normalement séparés.

30 Les complications liées aux adhérences post-opératoires peuvent être d'une gravité variable. Certaines sont très sérieuses. En chirurgie abdominale par exemple, les adhérences intrapéritonéales peuvent provoquer des occlusions intestinales. En gynécologie, les adhérences peuvent être cause de stérilité et sont parfois à l'origine de douleurs pelviennes, voire d'occlusions intestinales.

Un moyen d'éviter ou de diminuer le risque d'apparition de ce phénomène est d'intercaler, entre les tissus susceptibles de s'accorder, une plaque d'un produit résorbable, biocompatible, qui va séparer physiquement les deux tissus en question, pendant une durée nécessaire à la régénération du péritoine, puis qui sera résorbée en induisant une réaction inflammatoire la plus discrète possible.

5 Pour une utilisation en chirurgie coelioscopique, pratique de plus en plus courante compte tenu de ses nombreux avantages, la plaque évoquée ci-dessus doit de plus posséder des propriétés particulières liées à son mode 10 d'introduction et de fixation dans l'organisme.

Ainsi, la plaque doit être aisément manipulable, c'est-à-dire d'une 15 souplesse telle qu'elle puisse être roulée et passée dans un trocart d'environ 1 cm de diamètre, tout en étant en même temps suffisamment rigide et possédant une mémoire de forme telle qu'elle s'étale facilement une fois introduite dans la cavité abdominale.

Ensuite, elle doit pouvoir être fixée par sutures ou plus souvent par agrafes, ce qui suppose une résistance suffisante au déchirement, ceci au 20 moment de la fixation et pendant la durée de temps nécessaire pour qu'elle soit réhabilitée par les cellules de l'hôte.

Elle doit être également suffisamment résistante à la pression et à 25 l'étirement pour pouvoir conserver son intégrité pendant le temps nécessaire à la reconstruction d'un nouveau péritoine, estimé à quelques jours.

Il apparaît que les matériaux actuellement connus pour leur utilisation dans le domaine de la chirurgie viscérale ne répondent pas de façon 30 simultanée aux exigences énumérées ci-dessus.

Par ailleurs, les inventeurs se sont posé pour la première fois le nouveau problème technique de proposer une solution qui permette de discerner les vaisseaux sanguins de la zone sur laquelle la membrane est placée, de façon à pouvoir ainsi éviter ces vaisseaux lors de l'agrafage, ceci 35 permettant d'éviter les hémorragies qui posent un problème tout à fait crucial en chirurgie coelioscopique, et en particulier dans les zones de déperitonisation opératoire, c'est-à-dire des zones où le péritoine a été enlevé.

L'invention propose donc pour la première fois l'utilisation d'une membrane transparente qui permet de résoudre ce nouveau problème.

Les matériaux actuellement connus dans le domaine de la chirurgie coelioscopique ou viscérale ne sont pas adaptés.

5 Il est tout d'abord connu une plaque formé d'un treillis de copolymère d'acide lactique et glycolique enduit de collagène et commercialisé sous le nom de Treillis Vicryl Collagène® (Société Ethicon®-Ethnor S.A. 92200 NEUILLY, France) mais qui n'est pas transparente et dont la résorption est lente, à savoir plusieurs semaines ou mois, ce qui peut être très défavorable
10 en cas d'infections.

15 Par ailleurs, le déposant a proposé, dans le cadre de la demande de brevet FR-94 06995, une membrane collagénique anti-adhérence non transparente et non adaptée pour une mise en place dans le cadre de la chirurgie coelioscopique, en particulier viscérale, du fait de ses propriétés adhésives.

Il est encore connu, par le Document FR-2.628.634 B1, un patch de chirurgie viscérale réalisé à partir d'un biomatériau formé de deux couches de collagène superposées et associées intimement. Il est indiqué que ce patch permet une bonne cicatrisation des viscères et qu'il est réalisé à partir
20 d'un biomatériau qui se colle facilement. A la lecture des applications de ce patch, il apparaît qu'il n'est pas particulièrement destiné à la régénération du péritoine, ni surtout aux interventions sous coelioscopie. De plus, les présents inventeurs ont découvert que le patch décrit dans ce document présente une résistance mécanique relativement faible, en particulier une
25 résistance faible au déchirement, ce qui engendrerait des risques de déchirure au niveau des sutures ou des agrafes et finalement un détachement de la plaque.

30 Les présents inventeurs ont également découvert que le patch selon ce dernier document serait d'un emploi inconfortable en chirurgie coelioscopique puisqu'il a la particularité de se coller facilement et qu'il est souple, deux aspects qui sont contraires à la nécessité pour le matériau de pouvoir s'étaler sans difficulté après avoir été roulé et introduit dans un trocart.

Ainsi, la présente invention a pour but principal de fournir un nouveau matériau formant membrane ou plaque de chirurgie, particulièrement adapté à la chirurgie coelioscopique, de préférence utilisable dans la chirurgie pariétale en étant particulièrement adapté à la 5 régénération du péritoine, qui soit en outre biocompatible, ayant une bonne résistance mécanique pour permettre une fixation par sutures ou agrafes, aisément manipulable dans les conditions de la chirurgie sous coelioscopie.

La présente invention a encore pour but de résoudre le nouveau problème technique de la fourniture d'un nouveau matériau formant 10 membrane ou plaque de chirurgie, en particulier pour la chirurgie pariétale, de préférence en chirurgie sous coelioscopie, qui soit transparent afin de permettre au chirurgien de discerner les vaisseaux sanguins de la zone sur laquelle la membrane ou plaque est placée, de façon à pouvoir ainsi éviter ces vaisseaux lors de l'agrafage, ceci permettant d'éviter les hémorragies qui 15 posent un problème tout à fait crucial en chirurgie, et en particulier en chirurgie coelioscopique et notamment en chirurgie pariétale.

La présente invention a encore pour but de fournir un matériau qui évite la formation des adhérences post-opératoires et qui soit en outre particulièrement adapté pour permettre une régénération du péritoine.

20 La présente invention a encore pour but d'accélérer la régénération du péritoine.

Il a été découvert de façon tout à fait inattendue pour l'homme de l'art que l'utilisation de collagène éventuellement réticulé par un agent de réticulation du type décrit dans le document précédent du déposant 25 WO93/02718 permettait de résoudre complètement les problèmes techniques énoncés ci-dessus, de manière fiable et reproductible, utilisable à l'échelle industrielle et médicale, à un coût raisonnable.

Ainsi, la présente invention concerne une nouvelle utilisation de collagène éventuellement réticulé pour la fabrication d'une membrane 30 collagénique transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, et résorbable.

Dans le cadre de l'utilisation antérieure du déposant décrite dans le document WO93/02718, l'utilisation concernait la régénération tissulaire guidée en parodontologie. Dans le cadre de cette utilisation antérieure, la

membrane devait présenter une résorption lente et était de ce fait préparée à partir de collagène réticulé.

Il est également apparu que le patch décrit dans le document FR-2.628.634 B1 présente une résistance mécanique faible car il est constitué d'un film de collagène ou de gélatine obtenu par collage d'une solution sur du collagène fibreux, ce qui entraîne une redissolution partielle de ce collagène fibreux et qui résulte en un matériau présentant une résistance mécanique relativement faible.

Dans le cadre de la nouvelle utilisation objet de la présente invention, 10 il est avantageux que la résorption soit relativement rapide, c'est-à-dire qu'elle ait lieu dans un délai inférieur à trois mois. En outre, les membranes de l'invention doivent permettre une régénération rapide en chirurgie coelioscopique, et en particulier une régénération rapide du péritoine.

Ainsi, la présente invention concerne l'utilisation de collagène 15 éventuellement réticulé par un agent de réticulation, pour la fabrication d'une membrane collagénique, transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, et résorbable, de préférence à résorption relativement rapide, destinée à la régénération du péritoine, utilisable en chirurgie pariétale, de préférence en chirurgie sous coelioscopie, ladite membrane étant obtenue 20 par séchage par tout moyen approprié de séchage. Ce séchage peut être réalisé avantageusement à l'air ou encore par lyophilisation selon des procédures bien connues à l'homme de l'art. De préférence, la lyophilisation est suivie d'une compression.

Selon un mode de réalisation avantageux, la présente invention 25 prévoit encore que ladite membrane collagénique puisse être associée à un treillis synthétique résorbable ou non, biocompatible, suturable ou agrafable et dont le maillage soit tel que l'on puisse voir au travers.

Le produit ainsi formé peut alors être utilisé pour les réfections de la 30 paroi abdominale, permettant d'associer l'avantage de la membrane collagénique quant à sa propriété de régénération du péritoine et de prévention des adhérences et celui du treillis synthétique quant à sa résistance mécanique temporaire ou non. Le produit ainsi formé pourra donc être utilisé pour les cures d'éventration et de hernie.

Avantageusement, l'invention prévoit l'utilisation de collagène éventuellement réticulé par un agent de réticulation pour la fabrication d'une membrane, caractérisée en ce qu'elle comprend soit du collagène éventuellement réticulé à partir d'un collagène de départ éventuellement 5 coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par un agent coagulant, soit se présente sous forme d'une membrane mixte comprenant une éponge de collagène, sur laquelle a été coulé un gel de collagène, l'ensemble étant éventuellement réticulé et la membrane étant obtenue par séchage et notamment selon les méthodes de séchage décrites ci-dessus.

10 Selon un mode de réalisation particulier de l'invention dans le cadre d'une utilisation de la membrane en chirurgie pariétale, le collagène n'est pas réticulé. Selon un autre mode de réalisation, le collagène présente un taux de réticulation relativement faible. Par taux de réticulation relativement faible, on entend que le taux de réticulation est tel qu'il apparaît une augmentation 15 inférieure à 20°C, de préférence inférieure à 15°C, de la température de dénaturation du collagène par rapport au collagène natif de départ non soumis à la réticulation.

16 L'agent de réticulation peut être choisi parmi tout agent de réticulation de collagène connu. Il peut par exemple s'agir d'une aldéhyde comme une dialdéhyde, en particulier la glutaraldéhyde. Mais, de préférence, l'agent de réticulation est constitué par le diphenyl-phosphorylazide (en abrégé, DPPA). Contrairement à la plupart des autres agents réticulants, le DPPA induit la réticulation et ne se fixe pas sur le matériau.

17 Le procédé de réticulation lui-même est bien connu à l'homme de l'art. Pour un procédé de réticulation par le DPPA, on peut se reporter à une autre demande antérieure du déposant publiée sous le No. FR-A-2.645.870, qui est incorporée ici par référence.

18 Comme collagène, on peut utiliser du collagène natif, en particulier de type I ou de type III.

19 Selon une variante de réalisation particulière, on peut aussi utiliser de l'atélocollagène, bien que cela soit moins préféré.

Selon un autre mode de réalisation particulier, on utilise un mélange de collagène ou atélocollagène et de glycosaminoglycanne, ce mélange étant éventuellement réticulé par l'agent de réticulation.

Selon une variante de réalisation particulièrement avantageuse de l'utilisation selon l'invention, on peut fabriquer une membrane mixte comprenant une éponge de collagène sur laquelle a été coulé un gel de collagène avant séchage de l'ensemble selon les techniques de séchage précédemment décrites. L'ensemble peut éventuellement être réticulé après ce séchage, puis à nouveau soumis à une étape de séchage comme précédemment décrit, après cette réticulation.

Il est à noter que l'éponge de collagène peut être réalisée à partir de collagène natif, en particulier de type I ou de type III, ou à partir d'atélocollagène, ou à partir de collagène ou d'atélocollagène mélangés à un glycosaminoglycanne. Selon une variante de réalisation avantageuse, il est préféré que, dans le cas d'un mélange collagène ou atélocollagène-glycosaminoglycanne, le mélange soit neutralisé avant d'être lyophilisé pour obtenir ladite éponge.

Selon une autre variante de réalisation avantageuse de l'invention, l'éponge obtenue suite à la lyophilisation précitée peut être comprimée sous pression, en particulier sous une pression d'au moins 100 bars, encore mieux d'au moins 150 bars, par exemple d'environ 200 bars, avant de procéder au coulage du gel de collagène et à son séchage selon les procédures de séchage précédemment décrites.

Dans le cadre de l'invention, la membrane obtenue est transparente. Celle-ci reste transparente dans de larges limites d'épaisseur. De préférence, l'épaisseur de la membrane est comprise entre 0,05 millimètre (50 micromètres) et 1 millimètre, de préférence entre 0,1 millimètre et 0,5 millimètre (500 micromètres), la limite inférieure étant préférée en raison du fait que cette épaisseur minimale permet d'obtenir une résistance mécanique suffisante pour être agrafée ou suturée sans déchirement. L'épaisseur maximale est préférée pour maintenir la membrane transparente, ainsi que pour permettre à la membrane d'être roulée sans difficulté, introduite dans un trocart et déroulée encore sans difficulté sur la zone de fixation.

Selon une variante de réalisation particulière de l'invention, la membrane précitée peut être poreuse, notamment en ayant été préparée par une étape de lyophilisation à partir d'un gel de départ.

Dans le cadre de l'invention, on peut utiliser comme glycosaminoglycanne un glycosaminoglycanne de structure, en particulier l'acide hyaluronique, le chondroïtine-4-sulfate, le chondroïtine-6-sulfate, le dermatane-sulfate, l'héparane-sulfate, le kératane-sulfate, l'héparine et ses dérivés, en particulier les héparines de bas poids moléculaire compris entre environ 2 000 et environ 10 000.

La proportion relative de glycosaminoglycanne relativement au collagène ou à l'atélocollagène est de préférence comprise entre 18 et 25% en poids.

Le mélange du glycosaminoglycanne avec le collagène ou l'atélocollagène a lieu sous forme de solution. Par exemple, le glycosaminoglycanne est sous forme d'une solution aqueuse de glycosaminoglycanne contenant de 0,5 à 4% en poids, plus particulièrement de 0,5 à 2% en poids, et encore de préférence environ 1% en poids de glycosaminoglycanne. De même, le collagène ou l'atélocollagène peut être sous forme d'une solution aqueuse ayant une concentration entre 0,3 et 2% en poids, et encore de préférence entre 0,4 et 0,8% en poids de collagène ou d'atélocollagène. La solution de collagène ou d'atélocollagène peut être préparée selon l'invention par dissolution de fibres de collagène ou d'atélocollagène dans une solution aqueuse légèrement acide. En particulier, il peut s'agir d'une solution aqueuse d'acide acétique 0,1M.

On peut prévoir d'amener le mélange de collagène, ou d'atélocollagène, et de glycosaminoglycanne à un pH voisin de la neutralité et en particulier à un pH compris entre 6,5 et 8. On peut utiliser à cet effet une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.

Selon une autre variante de réalisation avantageuse de l'invention, on peut utiliser un collagène de départ à l'état coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par un agent coagulant comme décrit dans la demande précédente du déposant WO93/0718. Dans ce cadre, on réalise la coagulation du gel par un agent coagulant comprenant une solution ammoniacale ayant de préférence un effet déshydratant. Une telle solution

ammoniacale déshydratante est une solution ammoniacale organique utilisant de l'acétone comme agent déshydratant. Il se produit un effet de synergie par la combinaison acétone/ammoniaque pour la coagulation du gel et pour l'élimination de l'eau présente dans le gel.

5 On préfère avantageusement une proportion relative acétone/ammoniaque comprise entre 50/50 et 80/20 en volume, une proportion volumique encore particulièrement préférée étant de 70/30 d'acétone/ammoniaque.

10 Dans le cas où les quantités de gel à coaguler sont relativement importantes, on réalise un renouvellement de la solution coagulante en cours de coagulation.

15 Selon une variante de réalisation particulière, le gel peut être coulé à travers une filière de section et de forme appropriées pour obtenir un gel coagulé de forme appropriée. Lorsque la section de la filière est rectangulaire, on obtient ainsi un film qui, par la suite, va constituer la membrane par séchage.

20 Le gel coagulé obtenu peut ensuite être soumis à une réticulation par l'agent de réticulation précité en réglant le degré de réticulation de préférence pour permettre une résorption relativement rapide, comme précédemment décrit.

25 Selon encore une autre variante avantageuse de l'invention, on peut utiliser un gel de collagène ou d'atélocollagène, éventuellement mélangé à un glycosaminoglycanne, coulé sur le treillis synthétique précité, résorbable ou non, ou coulé dans un récipient et sur lequel sera déposé ledit treillis ou coulé de part et d'autre du treillis.

30 On notera que dans le cas où la membrane collagénique a été préparée par lyophilisation, de préférence suivie d'une compression, il suffit d'hydrater cette membrane pendant quelques secondes dans l'eau ou dans du sérum physiologique par exemple pour qu'elle acquiert une transparence qui permette de discerner, lors de l'agrafage ou de la suture, les zones à éviter telles que vaisseaux, nerfs.

Selon un deuxième aspect, l'invention couvre également une membrane de chirurgie pariétale, en particulier de chirurgie sous coelioscopie, transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, à

réorption relativement rapide, caractérisée en ce que ladite membrane comprend soit un collagène de départ éventuellement coagulé à partir d'un collagène de départ éventuellement coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par un agent coagulant, soit se présente sous forme d'une membrane mixte comprenant une éponge de collagène sur laquelle a été coulé un gel de collagène, l'ensemble étant éventuellement réticulé et la membrane étant obtenue par séchage par tout moyen de séchage approprié, en particulier à l'air, ou par lyophilisation, éventuellement suivie d'une compression, ladite membrane étant transparente et présentant éventuellement un taux de réticulation relativement faible pour permettre une vitesse de résorption relativement rapide.

Selon une variante de réalisation avantageuse, cette membrane est associée à un treillis synthétique résorbable ou non, biocompatible, suturable ou agrafable et dont le maillage soit tel que l'on puisse voir au travers.

Des variantes de réalisation de cette membrane résultent de la description précédente relativement au premier aspect de l'invention.

Selon un troisième aspect, la présente invention couvre également un procédé de traitement chirurgical selon lequel on introduit sous coelioscopie dans le corps du patient ayant besoin de ladite chirurgie, une membrane de chirurgie transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, à résorption relativement lente, telle que précédemment décrite en disposant une face de la membrane collagénique contre la paroi opérée où la membrane adhère spontanément, en prenant soin d'éviter les zones à vaisseaux et nerfs en jouant sur la transparence de la membrane, puis on agrafe ladite membrane sur la paroi à l'aide d'une pince pour agrafage sous coelioscopie.

Selon une variante de réalisation avantageuse du procédé de traitement, la membrane est introduite dans la cavité abdominale après déperitonisation préalable de la zone impliquée de la cavité abdominale selon une technique classique de chirurgie sous coelioscopie par l'intermédiaire d'un trocart dans lequel la membrane est enroulée sur elle-même après avoir été préalablement stérilisée par radiation y puis hydratée par trempage dans une solution de sérum physiologique pendant quelques secondes.

D'autres caractéristiques du procédé de traitement apparaîtront également clairement à l'homme de l'art à partir de la description précédemment et de la description suivante qui va être réalisée, comme cela est apparent à l'homme de l'art.

5 On comprend ainsi que l'invention permet d'aboutir à tous les avantages techniques déterminants précédemment énoncés ainsi qu'aux avantages techniques qui apparaîtront à l'homme de l'art à partir de la description explicative suivante de l'invention faite en référence à trois modes de réalisation actuellement préférés de l'invention, donnés
10 simplement à titre d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention. Dans les Exemples, les pourcentages sont donnés en poids, sauf indication contraire.

Exemple I :

15

Préparation d'une membrane de collagène simple

A – Extraction du collagène natif et préparation du gel

Un gel est préparé à partir de peaux de veaux préalablement lavées et
20 épilées par un mélange de chaux-sulfure (chaux : 4%, sulfure de sodium : 3%).

Elle est ensuite déchaulée dans un bain contenant du chlorure d'ammonium (2%) et du métabisulfite de sodium (0,5%). Elle est ensuite neutralisée, puis les sels sont éliminés par deux lavages à l'eau. Elle est alors
25 broyée, puis lavée par du tampon phosphate pH 7,8 (dihydrogénophosphate de potassium 0,78 g/l et monohydrogénophosphate disodique 21,7 g/l). Le phosphate est ensuite éliminé par deux lavages successifs à l'eau permutée.

Le broyat est alors acidifié par une solution d'acide acétique à 10%, la quantité d'acide acétique étant de 5% par rapport au collagène. Le broyat est
30 alors malaxé afin d'obtenir une pâte homogène. Cette pâte est ensuite diluée pour obtenir un gel ayant une concentration de 0,75% en collagène natif.

B – Préparation du film

Le gel obtenu est dégazé sous vide puis coulé dans un bain coagulant à travers une filière rectangulaire dont la section a une hauteur de 0,3 mm. La solution coagulante est un mélange acétone/ammoniaque (V/V 70/30) 5 qui est renouvelé tous les 250 ml de gel.

Le film obtenu est alors séché à l'air à température ambiante sur un support plastique en polytétrafluoroéthylène. Une fois sec, le film est aisément décollé de son support.

10 Le film est alors placé dans une solution de glycérol à 10%. Il est ensuite séché à l'air et stérilisé par radiation γ à une dose de 25 kGy (kiloGray). La membrane obtenue est ainsi transparente et aisément agrafable ou suturable.

Exemple II**Préparation d'une membrane mixte de collagène
glycosaminoglycanne réticulé****A – Extraction du collagène natif et préparation du gel**

Un gel est préparé à partir de peaux de veaux préalablement lavées et épilées par un mélange de chaux-sulfure (chaux : 4%, sulfure de sodium : 20 3%).

Elle est ensuite déchaulée dans un bain contenant du chlorure d'ammonium (2%) et du métabisulfite de sodium (0,5%). Elle est ensuite neutralisée, puis les sels sont éliminés par deux lavages à l'eau. Elle est alors broyée, puis lavée par du tampon phosphate pH 7,8 (dihydrogénophosphate 25 de potassium 0,78 g/l et monohydrogénophosphate disodique 21,7 g/l). Le phosphate est ensuite éliminé par deux lavages successifs à l'eau permutée.

Le broyat est alors acidifié par une solution d'acide acétique à 10%, la quantité d'acide acétique étant de 5% par rapport au collagène. Le broyat est alors malaxé afin d'obtenir une pâte homogène. Cette pâte est ensuite diluée 30 pour obtenir un gel ayant une concentration de 0,75% en collagène natif.

B – Préparation du chondroïtine-4-sulfate

Des cloisons nasales d'agneau débarrassées des tissus musculaires et adipeux sont hachées et broyées par extrusion à travers une grille

comportant des trous de 4 mm ; le broyat est placé pendant 24 h à une température de 6°C dans une tampon de chlorure de potassium (11,8 g/l de KCL, 78,8 mg/l de cystéine, ETDA 180 mg/l) renfermant 1% de papaïne "MERCK". La proportion étant de 130 g de broyat pour 1 l de tampon.

5 Le surnageant est séparé du culot par centrifugation en continu à l'aide d'une décanteuse tournant à 400 tr/min. Au surnageant, sont alors ajoutés 40 g/l d'acide trichloracétique. Le précipité est éliminé par centrifugation en continu selon la technique précédente. Le surnageant est neutralisé à l'aide de soude en pastilles. Le mélange est alors dialysé contre 10 de l'eau désionisée et stérile à l'aide de boyaux dont le seuil de coupure est compris entre 6000 et 8000 daltons. La solution dialysée est lyophilisée. Le chondroïtine-4-sulfate est obtenu à l'état sec.

C – Préparation de l'éponge collagène chondroïtine-4-sulfate

15 A 1 l de gel à 0,75% de collagène, est ajouté 1,87 g de chondroïtine-4-sulfate. Après neutralisation, le mélange est agité puis lyophilisé. L'éponge obtenue est pressée pendant 15 s sous une pression de 150 bars.

D – Préparation de la membrane mixte

20 Le gel de collagène à 1% est coulé sur l'éponge comprimée à l'aide d'une filière dont la section a une hauteur de 0,3 cm. 10 ml de gel sont déposés sur 35 cm² d'éponge. La membrane ainsi réalisée est séchée à l'air libre.

E – Réticulation chimique de la membrane

25 La membrane séchée est incubée pendant 24 h à 4°C dans une solution de DMF contenant du DPPA à raison de 5 microlitres dans 25 millilitres de DMF pour 1 g de produit sec. Le DPPA est éliminé de la membrane par rinçage dans une solution de tampon borate pH 8,9 30 (tétraborate de sodium 0,04M , acide borique 0,04M) puis rincée 5 fois à l'eau désionisée avant d'être placée dans une solution aqueuse de glycérol à 10%.

La membrane est ensuite séchée à l'air et stérilisée par radiation γ à une dose de 25 kGy (kiloGray).

5 Les membranes selon l'invention ainsi préparées sont transparentes, agrafables ou suturables. Elles peuvent être utilisées de préférence en une épaisseur comprise entre 0,1 millimètre et 1 millimètre comme membranes ou plaques de chirurgie, de préférence de chirurgie sous coelioscopie, en particulier de chirurgie pariétale.

10 Dans le cadre de l'invention, les membranes peuvent être fabriquées sous forme de plaques ayant diverses tailles. Généralement, la dimension des membranes ou plaques sera comprise, pour les applications envisagées, entre 3 x 3 et 30 x 30 cm. Toutefois, il est encore possible et préférable que la plaque soit recoupée au moment de son utilisation, en fonction de la taille 15 de la zone déperitonisée.

Il est à noter que les plaques fabriquées selon cet Exemple II présentent les propriétés mécaniques suivantes avant et après réticulation, ces plaques présentant une épaisseur de 0,2 mm environ :

15

Avant réticulation :

- résistance à la rupture : $0,22 \pm 0,10$ daN
- résistance à la déchirure : $0,11 \pm 0,04$ daN

20

Après réticulation :

- résistance à la rupture : $0,49 \pm 0,08$ daN
- résistance à la déchirure : $0,26 \pm 0,01$ daN.

25

Il est à noter que, dans le cas de la préparation d'une membrane mixte, il est préféré de réaliser une réticulation car cette réticulation permet de renforcer la cohésion entre la partie éponge, préparée selon la partie C de l'Exemple II, et la partie film, préparée selon la partie D de l'Exemple II.

Ainsi, cette réticulation a pour effet d'améliorer la résistance mécanique. La réticulation permet aussi de régler la durée de résorption.

30

On peut par exemple utiliser une membrane de forme carrée ayant une dimension de 15 x 15 cm par exemple pour former un cylindre susceptible de passer dans un trocart de 1 cm de diamètre et de s'étaler facilement une fois introduite dans la cavité abdominale.

Ces membranes ou plaques ont été utilisées en chirurgie conformément à l'Exemple ci-après.

Exemple III**Utilisation des membranes selon l'invention en chirurgie
sous coelioscopie pour la régénération du péritoine**

5 Des membranes sous forme de plaques carrées de 5 x 5 cm de côté telles qu'obtenues aux Exemples I et II ci-dessus, c'est-à-dire à l'état sec, stérilisées par radiations γ , sont tout d'abord hydratées par trempage dans une solution de sérum physiologique pendant quelques secondes, puis elles sont enroulées sur elles-mêmes de façon à pouvoir les faire passer dans un
10 trocart d'1 cm de diamètre environ. Elles sont introduites dans la cavité abdominale selon une technique classique de chirurgie sous coelioscopie par l'intermédiaire de ce trocart de 1 cm de diamètre. Puis elles sont étalées aisément à l'aide d'instruments classiquement utilisés en chirurgie coelioscopique. Les plaques sont placées contre la paroi abdominale, après
15 déperitonisation préalable de la zone. Les plaques adhèrent spontanément sur les zones où elles ont été déposées. En outre, étant donné qu'elles sont transparentes, l'agrafage en est particulièrement aisé. Les membranes ou plaques sont agrafées avec des agrafes en titane à l'aide d'une pince pour agrafage sous coelioscopie. Les zones-témoins ont été déperitonisées mais
20 n'ont pas reçu de membrane, à titre comparatif.

L'expérimentation a été réalisée sur trois porcs, chacun ayant reçu plusieurs membranes sous forme de plaques carrées de 5 x 5 cm ci-dessus décrites. Plusieurs zones-témoins ont également été réalisées dans le péritoine.

25 Les animaux sont sacrifiés après des délais de 1 semaine, 5 semaines et 3 mois.

Des contrôles coelioscopiques ont été effectués dans ces mêmes délais, avant le sacrifice, de façon à pouvoir juger du comportement des membranes ou plaques en situation. Ces contrôles ainsi que les examens
30 effectués à l'autopsie ont montré :

– L'absence d'adhérences,

– La régénération rapide du péritoine puisque, dès le premier délai (1 semaine), les membranes sont déjà recouvertes par une fine pellicule de tissu.

– Après 5 semaines, la résorption des plaques est très avancée, les adhérences sont toujours absentes, l'implant est apparemment complètement recouvert par un péritoine néo-formé.

5 – Après trois mois, les zones implantées sont difficiles à repérer. Les membranes ou plaques ont totalement disparu ou ne persistent qu'à l'état de traces, le péritoine présent sur le site d'implantation présentant un aspect normal.

10 – Il est à remarquer qu'il n'a pas été noté de différences majeures entre les plaques obtenues à l'Exemple I et celles obtenues à l'Exemple II, dans les conditions de l'essai.

– En revanche, dans les zones-témoins, les zones dépéritonisées qui n'ont pas été recouvertes d'une membrane ou plaque sont le siège d'adhérences qui persistent pendant toute la durée de l'expérimentation.

15 **Exemple IV :**

**Préparation d'une membrane de collagène séché
à l'air associée à un treillis synthétique**

A – Extraction du collagène natif et préparation du gel

20 Ces phases sont réalisées conformément à celles décrites au paragraphe A des exemples I et II ci-dessus.

B – Préparation de la membrane collagénique associée au treillis

25 Le gel obtenu est dégazé sous vide, puis une couche de gel d'environ 0,5 cm d'épaisseur est déposée sur un treillis synthétique transparent déposé dans un récipient, ledit treillis synthétique biocompatible étant disponible dans le commerce étant réalisé en fibres de polymère synthétique ayant un diamètre de 100 μ définissant ainsi des pores de diamètre 263 μ environ.

30 Après séchage à l'air, on obtient une membrane continue de collagène d'environ 200 micromètres d'épaisseur à la surface du treillis synthétique.

Le matériau obtenu est stérilisé par radiation γ à une dose de 25 kGy. La membrane obtenue est ainsi transparente et aisément suturable ou agrafable.

Exemple V

Préparation d'une membrane de collagène lyophilisé, compressé associée à un treillis synthétique

5

A – Extraction du collagène natif et préparation du gel

Ces phases correspondent à celles décrites au paragraphe A des exemples I et II ci-dessus.

10

B – Préparation de la membrane de collagène lyophilisé, compressé associé au treillis

Sur une couche de gel d'environ 0,5 cm d'épaisseur est déposé un treillis synthétique identique à celui de l'Exemple IV. L'ensemble est lyophilisé et réticulé physiquement par chauffage pendant 6 h à 110°C sous une pression de 450 µbars.

Le produit résultant est compressé à chaud, par exemple à 55°C pendant 15 secondes sous une pression de 200 bars.

Le matériau obtenu est stérilisé par radiation γ à une dose de 25 kGy.

20

Le matériau est une membrane collagénique opaque recouverte d'un treillis synthétique sur l'une de ses faces. Après hydratation pendant quelques secondes, dans l'eau ou dans du serum physiologique par exemple, le matériau acquiert une transparente suffisante pour être en mesure de l'agrafer ou de le suturer en évitant les zones défavorables telles que vaisseaux et nerfs.

25

Exemple VI

Utilisation des membranes selon l'invention associées à un treillis synthétique pour la régénération du péritoine dans les cas de réfection de paroi en chirurgie sous coelioscopie

30

Des membranes associées à un treillis synthétique sous forme de plaques carrées de 5 x 5 cm de côté telles qu'obtenues à l'exemple IV ci-dessus ainsi que des plaques de treillis synthétiques identiques à celui de

l'Exemple IV seules sont implantées sous coelioscopie chez le porc selon le protocole expérimental décrit à l'exemple III ci-dessus.

Les plaques formées par l'association de membranes collagéniques associées à un treillis synthétique sont implantées face collagénique en 5 regard des viscères.

Les contrôles coelioscopiques effectués avant le sacrifice ainsi que les examens effectués à l'autopsie ont montré que :

a – Après 1 semaine d'implantation :

10 – la membrane collagénique constitue une zone de clivage permettant la libération des éventuelles adhérences post-opératoires précoces qui peuvent se former ;
– l'absence de membrane collagénique (treillis seul) se traduit par la formation d'adhérences beaucoup plus difficiles à libérer.

15

b – Après 5 et 12 semaines d'implantation :

20 – la membrane collagénique associée au treillis s'est résorbée, sa résorption s'étant accompagnée de la libération spontanée des éventuelles adhérences qui avaient été observées au délai antérieur et d'une parfaite repéritonisation du site implanté ;
– certains sites ayant reçu le treillis seul sont encore le siège, au moins partiellement, d'adhérences persistantes.

Ainsi, l'invention permet bien de favoriser la régénération du péritoine et la prévention des adhérences post-opératoires.

25

Ainsi, l'invention permet bien de résoudre l'ensemble des problèmes techniques précédemment énoncés, en fournissant une nouvelle membrane transparente collagénique pour la chirurgie sous coelioscopie, aisément agrafable ou suturable et particulièrement utile dans la chirurgie viscérale, en particulier pour une régénération rapide du péritoine.

30

L'invention comprend naturellement tous les moyens constituant des équivalents techniques des moyens décrits ainsi que leurs diverses combinaisons.

REVENDICATIONS

1. Utilisation de collagène éventuellement réticulé par un agent de réticulation, pour la fabrication d'une membrane collagénique, transparente, 5 biocompatible, suturable ou agrafable, et résorbable, de préférence à résorption relativement rapide, destinée à la chirurgie, de préférence à la chirurgie sous coelioscopie, en particulier la chirurgie pariétale, ladite membrane étant obtenue par séchage par tout moyen de séchage approprié, en particulier par séchage à l'air ou par lyophilisation éventuellement suivie 10 d'une compression
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la membrane précitée comprend soit du collagène éventuellement réticulé à partir d'un collagène de départ éventuellement coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par un agent coagulant, soit se présente 15 sous forme d'une membrane mixte comprenant une éponge de collagène, sur laquelle a été coulé un gel de collagène l'ensemble étant éventuellement réticulé et la membrane étant obtenue par séchage précité.
3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce que le collagène est réticulé et présente un taux de réticulation relativement faible.
- 20 4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce que le taux de réticulation est tel qu'il apparaît une augmentation inférieure à 20°C, de préférence inférieure à 15°C, de la température de dénaturation du collagène par rapport au collagène natif de départ non soumis à la réticulation.
- 25 5. Utilisation selon la revendication 3 ou 4, caractérisée en ce que la réticulation est réalisée avec un agent de réticulation choisi parmi le groupe consistant d'une aldéhyde en particulier la glutaraldéhyde, et le diphényl-phosphorylazide, de préférence le diphénylphosphorylazide.
- 30 6. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce qu'on utilise du collagène natif, en particulier de type I ou de type III, de l'atélocollagène, ou un mélange de collagène ou atélocollagène et de glycosaminoglycanne, ce mélange étant éventuellement réticulé par l'agent de réticulation.

7. Utilisation selon la revendication 6, caractérisée en ce que le mélange collagène ou atélocollagène-glycosaminoglycanne est neutralisé avant d'être lyophilisé pour obtenir ladite éponge.

5 8. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'éponge précitée peut être comprimée sous pression, en particulier sous une pression d'au moins 100 bars, encore mieux d'au moins 150 bars, par exemple d'environ 200 bars, avant de procéder éventuellement au coulage du gel de collagène et à son séchage précité.

10 9. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la membrane précitée présente une épaisseur comprise entre 0,05 millimètre et 1 millimètre, de préférence entre 0,1 millimètre et 0,5 millimètre.

15 10. Utilisation selon l'une des revendications 6 à 9, caractérisée en ce que la proportion relative de glycosaminoglycanne relativement au collagène ou à l'atélocollagène est comprise entre 18 et 25% en poids.

20 11. Utilisation selon l'une des revendications 6 à 10, caractérisée en ce que le glycosaminoglycanne précité est choisi parmi un glycosaminoglycanne de structure, en particulier l'acide hyaluronique, le chondroïtine-4-sulfate, le chondroïtine-6-sulfate, le dermatane-sulfate, l'héparane-sulfate, le kératane-sulfate, l'héparine et ses dérivés, en particulier les héparines de bas poids moléculaire compris entre environ 2 000 et environ 10 000.

25 12. Utilisation selon l'une des revendications 6 à 11, caractérisée en ce que le mélange du glycosaminoglycanne avec le collagène ou l'atélocollagène a lieu sous forme de solution, le glycosaminoglycanne étant par exemple sous forme d'une solution aqueuse de glycosaminoglycanne contenant de 0,5 à 4% en poids, plus particulièrement de 0,5 à 2% en poids, et encore de préférence environ 1% en poids de glycosaminoglycanne ; le collagène ou l'atélocollagène peut être sous forme d'une solution aqueuse ayant une concentration entre 0,3 et 2% en poids, et encore de préférence entre 0,4 et 0,8% en poids de collagène ou d'atélocollagène.

30 13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce que le séchage de la membrane est réalisé à l'air.

14. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que la membrane collagénique est associée à un treillis synthétique résorbable ou non, biocompatible, suturable ou agrafable et dont le maillage soit tel que l'on puisse voir au travers.

5 15. Membrane de chirurgie pariétale, en particulier sous coelioscopie, transparente, biocompatible, suturable ou agrafable, à résorption relativement rapide, caractérisée en ce que ladite membrane comprend soit un collagène éventuellement réticulé à partir d'un collagène de départ éventuellement coagulé par suite d'une coagulation d'un gel de collagène par 10 un agent coagulant, soit se présente sous forme d'une membrane mixte comprenant une éponge de collagène sur laquelle a été coulé un gel de collagène, l'ensemble étant éventuellement réticulé et la membrane étant obtenue par séchage par tout moyen de séchage approprié, en particulier par séchage à l'air ou par lyophilisation éventuellement suivie d'une 15 compression, ladite membrane étant transparente et présentant éventuellement un taux de réticulation relativement faible pour permettre une vitesse de résorption relativement rapide.

16. Membrane selon la revendication 15, caractérisée en ce qu'elle est telle que définie à l'une quelconque des revendications 2 à 14.